

약배양 이용 벼멸구, 흰잎마름병 및 줄무늬잎마름병 저항성 복합 내병충성 벼 계통 육성

박현수^{1*} · 백소현¹ · 김우재¹ · 정지웅² · 이종희³ · 하기용¹ · 박종호¹ · 남정권¹ · 백만기¹ · 유재수¹ · 백채훈² ·
노태환¹ · 김기영¹ · 조영찬¹ · 김보경² · 이점호¹

¹농촌진흥청 국립식량과학원 벼매류부, ²농촌진흥청 국립식량과학원, ³농촌진흥청 연구정책국

Development of Multi-resistant Lines to Brown Planthopper, Bacterial Blight, and Rice Stripe Virus using Anther Culture in Rice

Hyun-Su Park^{1*}, So-Hyeon Baek¹, Woo-Jae Kim¹, Ji-Ung Jeung², Jong-Hee Lee³, Ki-Yong Ha¹,
Jong-Ho Park¹, Jeong-Kwon Nam¹, Man-Kee Baek¹, Jae-Soo Yoo¹, Chae-Hoon Paik², Tae-Hwan Noh¹,
Ki-Young Kim¹, Young-Chan Cho¹, Bo-Kyeong Kim², and Jeom-Ho Lee¹

¹Department of Rice and Winter Cereal Crop, NICS, RDA, Iksan 570-080, Korea

²National Institute of Crop Science, RDA, Suweon 441-857, Korea

³Research Policy Bureau, RDA, Suweon 441-707, Korea

Abstract : This study was conducted to develop multi-resistant lines to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus using anther culture in rice. A total of 213 double haploid lines were developed the cross between HR26234-12-1-1 conferring resistant to bacterial blight and rice stripe virus and SR30071-3-7-23-6-2-1-1 conferring resistant to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus. Using DNA molecular marker, HR26234 and SR30071 were confirmed to have *Xa3+xa5+Stvb-i* and *Bph18+Xa4+Stvb-i*, respectively. All double haploid lines carried *Stvb-i*, and *Bph18+Xa3*, *Bph18+Xa4*, *Bph18+Xa3+xa5*, *Bph18+Xa4+xa5*, *bph18+Xa3*, *bph18+Xa4*, *bph18+Xa3+xa5*, and *bph18+Xa4+xa5* combinations were identified. Segregation distortions such as no combinations carrying *Bph18(or bph18)+xa5+Stvb-i* and fewer lines carrying *Bph18* than *bph18* were occurred in DH population. Brown planthopper resistant lines carrying *Bph18* showed longer culm length than susceptible lines. Selected *Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i* combination lines with short culm conferred resistant to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus, while showed deleterious effects such as spikelet sterility, lower yield, and vulnerable to lodging than standard and comparative varieties. Using anther culture, we rapidly developed multi-resistant lines to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus. However, distorted segregation in DH population and linkage drag with *Bph18* were obstacles to develop practical multi-resistant cultivars.

Keywords : Rice, Multi-resistant, Anther culture, Segregation distortion, Linkage drag

서 언

지속 가능하고 안정적인 쌀 생산을 위해서는 병해충에 대한 관리가 필수적이다(Savary et al. 2006). 벼의 병해충에 의한 피해를 가장 적극적으로 대처하는 방법은 저항성 품종을

개발하고 이를 재배하는 것이다(Khush 1989). 세계 각국에서 벼 병해충에 대한 저항성 품종 육종사업이 수행되고 있다. 우리나라 자포니카 벼 품종에 대해 가장 피해를 많이 주는 병은 도열병, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병이며, 해충은 벼멸구에 의한 피해가 가장 많다(Lee et al. 2011). 저항성 육종사업은 해당 병해충에 대해 효과적인 저항성원을 확보하고 이를 우량 품종으로 도입하는 일련의 과정을 거친다.

자포니카 유전자원은 협소한 유전적 배경으로 생물적 스트

*Corresponding author (E-mail: mayoe@korea.kr, Tel: +82-63-840-2256, Fax: +82-63-840-2119)

(Received on February 3, 2014. Revised on February 27, 2014.
Accepted on March 3, 2014.)

레스에 저항성인 유전자를 확보하는데 제한적이다(Jeung et al. 2005). 자포니카는 인디카에 비해 상대적으로 약한 벼멸구 저항성을 나타내며, 벼멸구 저항성 주동 유전자 중 대부분인 26개가 인디카와 야생벼로부터 발견되었다(Huang et al. 2013). *Bph18* 저항성 유전자는 야생벼 *O. australiensis*로부터 인디카 계통에 이전되었고 마커 활용 선발법(marker-assisted selection; MAS)과 전 게놈의 배경 분석(genome-wide background analysis)을 통해 자포니카 주남벼 배경에 도입되었다(Jena et al. 2006, Suh et al. 2011). *Bph18* 도입 계통들은 벼멸구 유묘 및 성체검정에서 강한 저항성 반응을 나타냈으며, 선발된 우량 계통이 2010년에 품종명 안미로 등록되었다. 벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa2* (Tetep), *Xa4* (TKM6), *Xa11* (IR8), *Xa18* (IR24) 등은 인디카 품종에서 유래하였고, 야생벼로부터 *Xa21* (*O. longistaminata*), *Xa23* (*O. rufipogon*), *Xa27* (t)와 *Xa35* (t) (*O. minuta*), *Xa38* (*O. nivara*)이 도입되었다. 우리나라 벼흰잎마름병 저항성원으로 많이 활용되고 있는 *Xa3*는 저항성이 자포니카 일본 품종인 Wase Aikoku 3로부터 유래하였고 1991년에 저항성 품종인 화영벼와 안중벼가 개발된 이후로 이를 이용하여 많은 우량 품종이 개발되었다(Kim et al. 2007, Shin et al. 2011). 여교배를 통해 방글라데시 *Aus* 품종 DV85의 *xa5*를 자포니카 수원345호 배경으로 도입한 근동질 유전자 계통이 육성되었고 실질적인 품종 개발로 이어져 2006년에 강백이 육성되었고, 이를 활용하여 *Xa3*와 *xa5*가 결합된 진백(2008)이 개발되어 변이군인 K3a에 대응할 방안을 마련하였다(Shin et al. 2011). 우리나라 자포니카 벼 품종의 벼줄무늬잎마름병 저항성은 인디카 Modan 유래 저항성 유전자 *Stvb-i*가 도입되어 안정적으로 이용되고 있다(Kwon et al. 2012). 1975년에 최초의 저항성 품종인 낙동벼가 개발(Chung et al. 1975)된 이후로 저항성 품종개발에 *Stvb-i*이 지속적으로 이용되고 있다.

여러 육종 방법 중에서 약배양은 육종기간을 단축시키고 분리집단에서 고정계통을 개발하는데 유용하다(Grewal et al. 2011). 농촌진흥청에서는 약배양을 통해 1985년에 화성벼가 개발된 이후로 2013년까지 27개 품종이 개발되었다. 병해충 저항성 육종사업에서 표현형 정보만을 이용할 경우 생물검정의 어려움과 하나의 저항성 유전자가 다른 저항성 유전자의 효과를 숨길 수 있기 때문에 여러 개의 저항성 유전자를 집적시키거나 다양한 병해충에 대한 저항성 품종 개발에 어려움이 따른다(Lee et al. 2011, Yoshimura et al. 1995). 해당 저항성 유전자를 표지하는 분자 마커가 개발되어 있을 경우 이

를 활용하여 저항성유전자 도입 여부를 초기 세대부터 확인할 수 있으며 여러 저항성 유전자를 하나의 품종에 집적시킬 수 있다(Dokku et al. 2013, Suh et al. 2013, Xu 2013).

본 연구는 벼멸구, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 자포니카 복합내병충성 품종을 조기에 개발하고자 약배양을 수행하여 고정계통을 육성하고, DNA 분자 마커를 활용하여 저항성 유전자를 확인함과 동시에 병해충에 대한 생물 검정을 통해 목표 저항성 유전자가 집적된 복합 내병충성 계통을 선발하고자 수행되었다. 또한 육성 과정 중에 발생할 수 있는 문제점을 파악하여 저항성 육종사업에 반영하고자 하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 재배방법

벼흰잎마름병과 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 계통 HR26234-15-1-1을 자방친으로 하고 벼멸구, 벼흰잎마름병 및 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 계통 SR30071-3-7-23-6-2-1-1을 화분친으로 하여 인공 교배한 F₁을 약배양하여 얻은 double haploid (DH) 213계통을 이용하였다. 이들 계통을 2011년 국립식량과학원 벼맥류부 시험포장에 재식거리 30 × 15 cm로 주당 1본씩 이양하였다. 주요 농업 형질 조사와 벼흰잎마름병 균계 검정을 수행하였고 벼멸구 저항성 검정은 유묘 검정법을 이용하였다. DNA 분자 표지를 이용하여 이들 계통에 대한 저항성 유전자를 확인하였다. 2011년에 선발된 저항성 유전자가 집적된 7개 계통을 표준품종 남평벼, 비교품종 진백, 안미와 함께 2012년에 재식거리 30 × 15 cm로 주당 3본식, 구당 180 주 가량을 3반복으로 이양하여 생산력 검정시험을 수행하였다. 벼흰잎마름병 접종에 따른 수량성 및 품질 변이를 조사하기 위해서 생산력 검정시험에 공시된 동일한 재료를 재식거리 30 × 15 cm로 주당 3본식, 구당 180 주 가량을 무접종구, 접종구로 나누어 이양하였다. 접종 시험구는 대조 품종의 최고 분얼기에 K3a 균계(HB0109 균주)를 이용하여 시험구 전개체를 가위 절엽접종하였다. 시비량은 N-P₂O₅-K₂O를 90-45-57 kg/ha으로 질소는 기비 : 분얼비 : 수비를 50 : 20 : 30 비율로 분시하였고, 인산은 전량 기비로, 칼륨은 기비 : 수비를 70 : 30 비율로 분시하였다. 그 밖의 재배 방법은 농촌진흥청 표준 재배법을 따랐다.

병해충 저항성 검정

벼멸구 저항성 검정에 이용된 벼멸구는 국립식량과학원 벼

맥류부 간척지농업과 해충 사육실에서 동진벼를 식이품종으로 사육된 벼멸구를 이용하였다. 벼멸구 유묘 검정은 60 × 30 cm 기계이앙상자를 20칸으로 구획한 상자에 계통당 20립 정도씩 파종하여 유리 온실 베드에 치상하였다. 파종 후 15~20일경 식물체가 4~5엽까지 자랐을 때 개체당 벼멸구 유충이 7~10 마리씩 되게 접종하였고, 감수성인 남평벼가 완전히 고사되었을 때 저항성 여부를 판정하였다(Shin et al. 2011). 벼멸구 성체 검정은 포장에 재식된 공시 재료를 최고 분얼기에 3주씩 플라스틱 상자(78 × 45 × 18 cm)에 이식 후 벼멸구를 접종하여 감수성인 남평벼가 완전히 고사되었을 때 저항성 여부를 판정하였다.

벼흰잎마름병 검정은 공시된 약배양 213계통에 대해서 HB01013 (K1 레이스), HB01009 (K3a) 균주를 이용하여 균계별로 3주씩 엽선단 약 3 cm 부위를 가위 절엽접종(Kauffman et al. 1973)하여 접종 후 3주 후에 가장 긴 병반을 가진 3개 엽의 병반장을 측정하여 평균한 값을 이용하였다. 질적 저항성은 평균 병반장이 5 cm 이하는 저항성(R; resistant), 5~10 cm는 중도저항성(MR; moderately resistant), 10 cm 이상은 이병성(S; susceptible)으로 구분하였다(Shin et al. 2011). 선발된 우량 고정계통에 대해서는 HB01013 (K1), HB01014 (K2), HB01015 (K3), HB01009 (K3a 레이스) 균주를 접종하여 저항성에 대해 좀더 면밀히 검정하였다.

벼줄무늬잎마름병 검정은 망실을 이용한 대량 검정법으로 바이러스 보독충의 방사 및 계대 사육으로 보독충이 충분히 유지된 망실에서 계통당 1.5g을 조파하였으며, 파종 후 30일경 이병성 대비품종 일품벼가 병징을 나타낼 때 저항성과 감수성으로 판정하였다(Kwak et al. 2007).

수량 및 품질 관련 형질 조사

생산력 검정시험에 공시된 재료의 출수기를 조사하고 성숙기에 시험구별 10개체에 대해서 간장, 수장, 수수를 측정하였다. 출수 후 45일에 시험구별로 3주를 예취하여 등숙률 및 수당립수를 측정하고, 수량 조사는 100주를 예취하여 정조수량을 측정한다. 이 중 1.5 kg에 대해 정현기로 제영하여 정현비율을 측정하고, 100주 정조수량에 정현비율을 곱하여 현미수량을 구하고 10a당 수량으로 환산하였다. 정현된 현미를 가지고 현미천립중을 측정하였다. 벼흰잎마름병 접종에 따른 시험에서 대조구와 접종구에서 각각 3주를 예취하여 등숙률을 측정하고, 수량조사는 20주를 3반복으로 예취하여 정조수량을 측정한다. 제영하여 현미수량을 측정하였다. 현미 외관 품위 조사는 RN300 (Kett Co., Japan)을 이용하여 정립율을 측정하였고, 단백질 함량은 Infratec 1241 Grain Analyzer (Foss Co., Sweden)를 이용하여 측정하였다.

저항성 유전자 확인

Genomic DNA 추출은 BioSprint 96 (Qiagen Co., Germany)을 이용하였다. 샘플을 TissueLyser II (Qiagen Co., Germany)를 이용하여 마쇄한 후 BioSprint 96 DNA Plant Kit (Qiagen Co., Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 벼줄무늬잎마름병 저항성 유전자 *Stvb-i*, 벼멸구 저항성 유전자 *Bph18*, 벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa3*, *Xa4*, *xa5* 를 확인하기 위해 대상 유전자와 밀접하게 연관된 DNA 분자 마커인 ST10 (Hayano-Saito et al. 2000), 7312.T4A (Jena et al. 2006), 9643.T4, 10571.T14, 10603.T10Dw를 이용하였다(Table 1). PCR은 10 ng의 DNA와 AccuPower[®] PCR PreMix (Bioneer

Table 1. Gene-specific PCR primers used for the identification of resistance genes.

R-genes	Chr. No.	Marker name	Primer sequences		Expected size (bp)	Reference
			Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')		
<i>Stvb-i</i>	11	ST10	CGAAAGATGGTTTCTCCACC	GACCAAGCAACTAATGACGC	727	Hayano-Saito et al. (2000)
<i>Bph18</i>	12	7312.T4A	ACGGCGGTGAGCATTGG	TACAGCGAAAAGCATAAAGAGTC	398	Jena et al. (2006)
					566	
<i>Xa3</i>	11	9643.T4	AGCCGAGCAATGATACCGACA	ACAACCTGGGATCGAACCGACA	290	Jeung et al. (unpublished)
<i>Xa4</i>	11	10571.T14	TGTTGGAGGATTGGCAAGGAA	TTCGTTGCGGCGTTGTTAATC	570	Jeung et al. (unpublished)
<i>xa5</i>	5	10603.T.10Dw	GCACTGCAACCATCAATGAATC	CCTAGGAGAACTAGCCGTCCA	280	Jeung et al. (unpublished)

Co., Korea)를 이용하여 My-Genie 96 Thermal block (Bioneer Co., Korea)에서 수행되었다. PCR 반응은 ST10은 94°C에서 4분간 초기변성 후 94°C 40초, 62°C 30초, 72°C 1분간 총 35회 반복하였고, 7312.T4A는 94°C에서 5분간 초기변성 후 94°C 30초, 57°C 30초, 72°C 40초간 총 45회 반복하였고 72°C에서 5분간 반응하였다. 9643.T4와 10571.T14는 94°C에서 5분간 초기변성 후 94°C 40초, 63°C 또는 60°C (10571.T14) 40초, 72°C 1분간 총 40회 반복하였고, 10603.T10Dw은 95°C에서 4분간 초기변성 후 95°C 30초, 65°C 30초, 72°C 1분간 총 35회 반복하고 72°C에서 5분간 반응하였다. 증폭된 PCR 산물 4 µl를 7312T4A는 3U *Hinf* I, 9643.T4는 2U *Taq* I와 65°C에서 3시간, 10571.T14는 3U *Tsp509* I와 65°C에 2시간, 10603.T10Dw는 *Rsa* I와 37°C에서 3시간 제한효소 처리하였다. ST10에 의한 증폭 산물은 제한효소 처리 없이 전기영동에 이용하였다. EtBr이 포함된 2% agarose gel에서 전기영동 후 UV transilluminator를 이용하여 유전자형을 판정하였다.

통계 분석

통계 분석은 SAS 프로그램(Version 9.2, SAS Institute Inc, Cary, North Carolina)을 이용하였다. 저항성 유전자 조합들의 농업형질에 대한 평균과 표준편차를 기술 통계법으로 구하였고, 평균간 비교는 PROC ANOVA로 분산분석 후 유

의성이 있을 경우 5% 유의수준에서 Duncan's Multiple Range test (DMRT)로 분석하였다. PROC t-test를 이용하여 K3a 균계 집종에 따른 대조구와 집종구의 형질 변이를 비교하였다.

결 과

약배양 계통 육성

약배양에 모부분으로 이용한 HR26234-15-1-1 (이하 HR26234) 과 SR30071-3-7-23-6-2-1-1 (이하 SR30071) 계통의 농업형질 특성과 병해충 저항성은 Table 2와 같다. SR30071이 HR26234보다 간장이 11 cm 컷고 수장이 길었으며 수수는 적었다. HR26234는 벼흰잎마름병 K1과 K3a 레이스와 벼줄무늬잎마름병에 저항성을 보였고, SR30071은 벼멸구, 벼흰잎마름병 K1과 K3a 레이스 및 벼줄무늬잎마름병에 저항성을 나타냈다. HR26234를 모본으로 하고 SR30071을 부분으로 인공 교배하여 F₁ 29개체를 육성하였다. 각 개체에서 이삭을 채취하여 약배양을 수행하였고 총 213개의 고정계통을 육성하였다(Table 3).

저항성 유전자 확인

목표 유전자와 연관된 DNA 분자 마커를 이용하여 저항성 유전자를 확인하였다. HR26234는 *Xa3+xa5*, *Stvb-i*를 SR30071은 *Bph18*, *Xa4*, *Stvb-i*를 가지고 있는 것으로 나타났다. 이들

Table 2. Characteristics of the parents using anther culture.

Parents	Heading date (DAS ^z)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per hill	Reaction to				Resistance genes
					rice stripe virus	brown plant-hopper	bacterial blight		
							K1 race	K3a race	
HR26234-15-1-1	104	72	18	13	R ^y	S	R	R	<i>Xa3+xa5+Stvb-i</i>
SR30071-3-7-23-6-2-1-1	99	83	22	9	R	R	R	R	<i>Xa4+Bph18+Stvb-i</i>

^zDay after seedling

^yR and S mean resistant and susceptible to insect and disease

Table 3. Anther culture ability and double haploid lines derived from the cross of HR26234-15-1-1/SR30071-3-7-23-6-2-1-1.

Anther cultured (no.)	Cali induced (no. and %)	Plant regeneration (no. and %) ^z	Green plants (no. and %) ^y	Albino (no. and %) ^x	Double haploid lines (no.) ^w
5,300	1,898 (35.8)	399 (21.0)	232 (58.1)	167 (41.9)	213

^zPercent plant regeneration is the number of plants regenerated over number of cali plated

^yPercent green is the number of green plants regenerated over total plants regenerated

^xPercent albino is the number of albino plants regenerated over total plants regenerated

^wDouble haploid lines are harvested plants having fertile grain

유래 약배양 계통들은 모두 *Stvb-i*를 가지고 있었고, *Bph18* +*Xa3*, *Bph18*+*Xa4*, *Bph18*+*Xa3*+*xa5*, *Bph18*+*Xa4*+*xa5*, *bph18*+*Xa3*, *bph18*+*Xa4*, *bph18*+*Xa3*+*xa5*과 *bph18*+*Xa4*+*xa5* 등 총 8개의 유전자 조합이 확인되었다(Fig. 1). *Bph18*을 가지고 있는 계통은 42계통으로 *bph18* 계통에 비해 4배 가량

적게 발생하였고, 작성 가능한 벼흰잎마름병 저항성 유전자 조합 중에서 *xa5* 단독 계통은 발생하지 않았다(Table 4).

약배양 계통의 농업형질 특성 및 병해충 저항성 반응

Bph18 보유 계통은 *bph18*에 비해서 출수기, 수장, 수수는

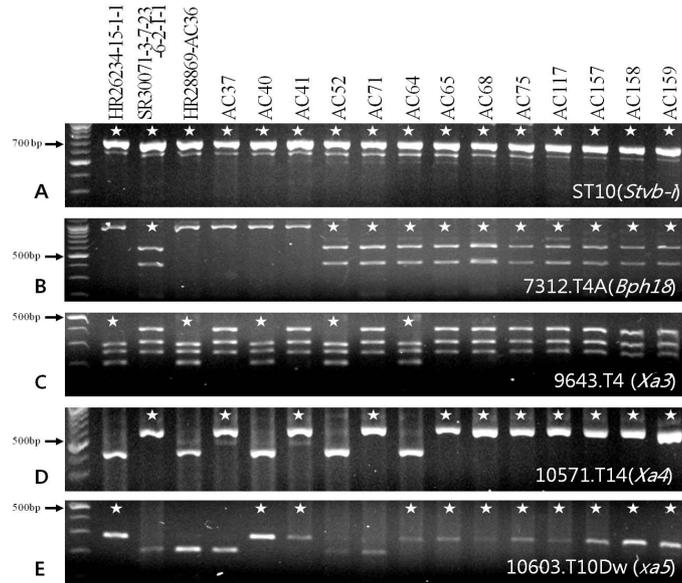


Fig. 1. PCR analysis to confirm the resistance genes using the gene specific DNA markers. *Stvb-i*, *Bph18*, *Xa3*, *Xa4*, and *xa5* was confirmed by PCR product amplified with primer, ST10 (A), 7312.T4A(cleaved by *Hinf*I, B), 9643.T4 (cleaved by *Taq*I, C), 10571.T14 (cleaved by *Tsp509* I, D), and 10603.T10Dw (cleaved by *Rsa* I, E), respectively. The white stars represent the lines carrying the resistance genes.

Table 4. Agronomic characteristics of the groups classified by resistance genes combination and their resistance reaction to brown planthopper and bacterial blight.

Resistance gene		No. of lines	Reaction to BPH	Reaction to BB		Heading date (DAS)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per hill	Remark
RSV ^z	BPH			BB	K1					
			R	R	S	112 ± 2.4ab ^y	77.1 ± 3.5bc	19.3 ± 1.7c	9.7 ± 1.3c	sterility
				R	R	106 ± 1.9abc	80.4 ± 5.0ab	22.0 ± 0.7a	12.1 ± 1.0a	
	<i>Bph18</i>	<i>Xa3</i> + <i>xa5</i>		R	R	113 ± 13.0a	83.7 ± 10.8a	20.6 ± 1.2b	11.9 ± 1.9a	sterility
		<i>Xa4</i> + <i>xa5</i>		R	R	101 ± 1.8c	76.8 ± 4.2bc	21.0 ± 0.8b	11.9 ± 1.4a	
		Total				108 ± 8.9A	79.8 ± 7.4A	20.7 ± 1.5A	11.4 ± 1.7A	
<i>Stvb-i</i>		<i>Xa3</i>		R	S	107 ± 12.5abc	68.4 ± 6.9d	20.4 ± 1.1b	11.8 ± 1.6ab	
		<i>Xa4</i>		R	R	104 ± 8.0bc	70.1 ± 7.9d	20.7 ± 1.1b	11.4 ± 1.5ab	
	<i>bph18</i>	<i>Xa3</i> + <i>xa5</i>	S	R	R	109 ± 10.abc	70.4 ± 6.2d	20.8 ± 1.4b	11.7 ± 1.6ab	
		<i>Xa4</i> + <i>xa5</i>	R	R	103 ± 7.1c	71.8 ± 4.6cd	20.9 ± 0.9b	10.5 ± 1.5bc		
		Total				106 ± 10.3A	69.7 ± 7.0B	20.7 ± 1.2A	11.6 ± 1.6A	

^zRSV: rice stripe virus, BPH: brown planthopper, BB: bacterial blight

^yMeans with same letter are not significantly different at *P* < 0.05 (ANOVA followed by DMRT)

차이가 없었으나 간장이 10.1 cm 컸다. *Bph18* 보유 계통 중 벼흰잎마름병 *Xa3*와 *Xa3+xa5* 조합의 계통은 출수가 늦고 불임이 발생하는 등 열악 형질이 발현되었다. 자포니카형 *Bph18* 계통은 벼멸구 유묘 저항성에서 *Bph1*을 가지는 통일형 다산2호와 *Bph3*를 가지는 인디카 IR72와 비슷한 수준의 강한 저항성 반응을 나타냈다(Fig. 2). *Xa4*, *Xa3+xa5*와 *Xa4+xa5*는 벼흰잎마름병 K1과 K3a레이스에 저항성 반응을 나타냈다.

내병충성 계통 선발 및 농업형질 특성

벼멸구 저항성 유전자 *Bph18*, 벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa4+xa5*, 벼줄무늬잎마름병 저항성 유전자 *Stvb-i*가 집적된 7 계통을 선발하여 2012년에 생산력 검정시험을 수행하였다(Table 5). 출수일수는 96, 97일로 진백(110일), 남평벼(106), 안미(102)보다 빠른 중생종이었고, 간장은 66~71 cm로 진백(71 cm), 남평벼(78), 안미(77)보다 짧으며, 수당립수는 102~118개로 진백(93개), 남평벼(95)보다는 많고 안미(119)보다는 적었다. 등숙률이 72.0~80.7%로 안미(84.0%),

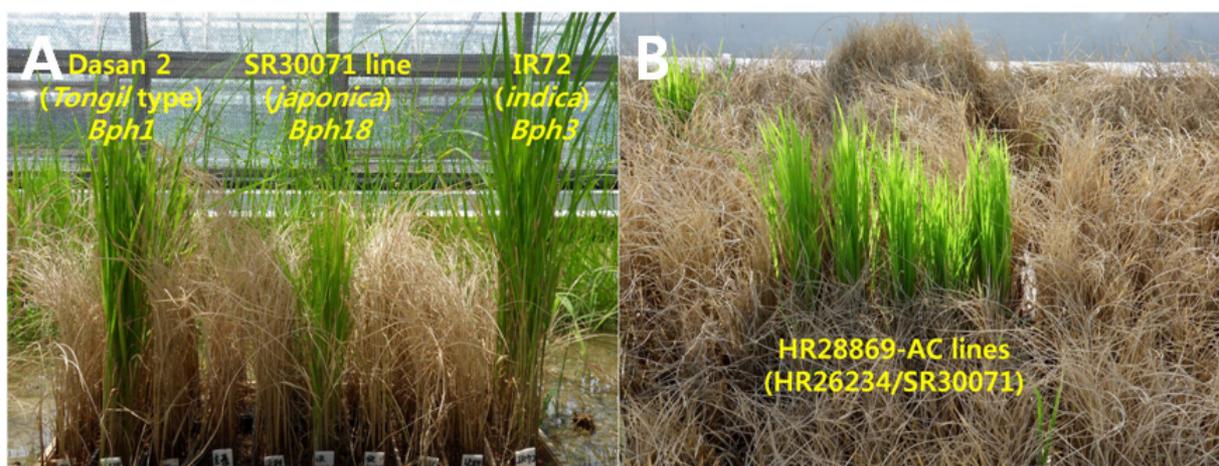


Fig. 2. Resistance reaction of SR30071-3-7-23-6-2-1-1 (A) and double haploid lines (B) derived from the combination of HR26234-15-1-1/SR30071-3-7-23-6-2-1-1 to brown planthopper at seedling stage.

Table 5. Yield-related traits of varieties and DH lines at yield trial.

Var./lines	Heading date (DAS ^z)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	No. of panicles per hill	No. of spikelets per panicle	Ratio of ripened grain (%)	1,000 grain weight of brown rice (g)	Rough rice yield (kg/10a)	Brown/rough rice ratio (%)	Brown rice yield (kg/10a)	Index of brown rice yield ^y (%)
Nampyeongbyeo	106b ^x	78.3a	20.0bc	14	95b	90.1a	20.9ab	647a	79.2	512a	100
Jinbaek	110a	71.4b	20.8b	15	93b	87.6a	21.3a	643a	79.8	513a	100
Anmi	102c	76.5a	22.9a	13	119a	84.0ab	20.3b	674a	79.4	535a	104
HR28869-AC65	96d	65.6d	19.8c	13	102ab	77.8bcd	20.6ab	528b	79.2	419bc	82
HR28869-AC68	96d	67.4bcd	19.9c	13	114a	78.5bcd	20.3b	517b	79.2	410bc	80
HR28869-AC75	96d	67.5bcd	20.3bc	12	118a	80.7bc	21.2a	508b	79.6	404bc	79
HR28869-AC117	97d	70.6bc	20.1bc	12	107ab	78.7bc	20.9ab	527b	79.6	419bc	82
HR28869-AC157	96d	67.0cd	20.0bc	12	114a	74.8cd	21.1a	505b	79.2	400c	78
HR28869-AC158	96d	67.1bcd	20.3bc	12	109ab	79.4bc	21.2a	537b	79.6	428b	84
HR28869-AC159	96d	68.5bcd	20.4bc	12	107ab	72.0d	20.9ab	508b	79.7	405bc	79

^zDay after seedling

^yBrown rice yield of Nampyeongbyeo was a standard

^xMeans with the same letter are not significantly different at P< 0.05 (ANOVA followed by DMRT)

진백(87.6), 남평벼(90.1)에 비해 낮았고 수량성은 표준품종인 남평벼에 비해 79~84% 수준으로 낮았다.

선발계통의 병해충 저항성 성능 검정

선발된 내병충성 계통들은 유묘 및 성체에서 벼멸구에 강한 저항성을 나타냈으며 벼흰잎마름병 K1, K2, K3, K3a 균

계에 저항성이고 벼줄무늬잎마름병에 강하였다(Table 6, Fig 3, 4). 벼흰잎마름병에 대한 저항성 성능검정을 위해 K3a 균계 접종한 결과 이병성인 남평벼와 안미는 수량, 등숙률, 현미 정상립률이 대조구에 비해 유의하게 감소한 반면 이들 계통들은 차이가 나지 않는 경향이였다(Table 7).



Fig. 3. Resistance reaction to brown planthopper. At seedling stage (A). At maximum tillering stage (B). 1: Nampyeongbyeo, 2: Jinback, 3: Anmi, 4: HR28869-AC65, 5: HR28869-AC68, 6: HR28869-AC75, 7: HR28869-AC117, 8: HR28869-AC157, 9: HR28869-AC158, 10: HR28869-AC159. Check variety is Nampyeongbyeo.

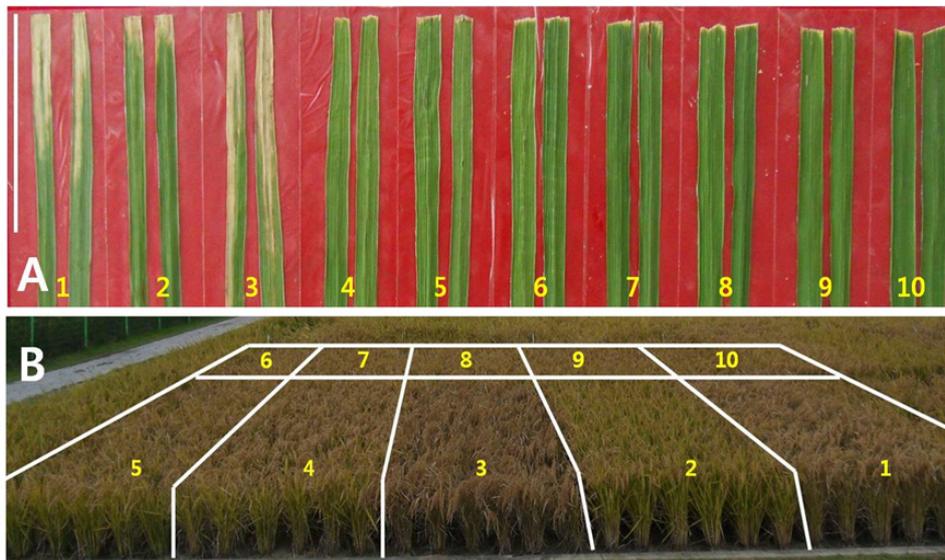


Fig. 4. Resistance reaction to bacterial blight, K3a (HB1009 isolate) race. Lesion length at 2 weeks after inoculation (A). Field scenery at maturing stage after inoculation (B). 1: Nampyeongbyeo, 2: Jinback, 3: Anmi, 4: HR28869-AC65, 5: HR28869-AC68, 6: HR28869-AC75, 7: HR28869-AC117, 8: HR28869-AC157, 9: HR28869-AC158, 10: HR28869-AC159. White bar indicates 10 cm.

고 찰

여러 육종방법 중에서 약배양은 육종기간을 단축시키고 분리집단에서 고정계통을 개발하는데 유용하다(Grewal et al. 2011). 벼흰잎마름병과 벼줄무늬잎마름병에 저항성우량 계통 HR26234-12-1-1 (이하 HR26234)과 벼멸구, 벼흰잎마름병 및 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 SR30071-3-7-23-6-2-1-1 (이하 SR30071)계통을 인공 교배한 F₁을 약배양하여 총 213 개 고정계통을 조기에 육성하였다(Table 3). DNA 분자 마커

는 마커 활용 선발법(marker-assisted selection; MAS)을 통해 전통 육종의 효율성과 정확성을 개선할 커다란 가능성을 가지고 있다(Collard and Mackill 2008). 저항성 육종사업에서 해당 저항성 유전자를 표지하는 분자 마커가 개발되어 있을 경우 이를 활용하여 저항성 유전자 도입 여부를 초기 세대부터 확인할 수 있으며 여러 저항성 유전자를 하나의 품종에 집적시킬 수 있다(Dokku et al. 2013, Suh et al. 2013, Xu 2013). 본 연구에서는 벼멸구 저항성 유전자 *Bph18*에 7312.T4A (Jena et al. 2006), 벼흰잎마름병 저항성 유전자 *Xa3*, *Xa4*,

Table 6. Reaction of varieties and DH lines to brown planthopper, bacterial blight, and rice stripe virus.

Var./lines	Brown planthopper		Bacterial blight				Rice stripe virus	Resistance genes
	at seedling	at maximum tillering	K1	K2	K3	K3a		
Nampyeongbyeo	S ^z	S	S	S	S	S	R	<i>Stvb-i</i>
Jinbaek	S	S	R	R	R	R	S	<i>Xa3+xa5</i>
Anmi	R	R	R	R	R	S	R	<i>Bph18+Xa3+Stvb-i</i>
HR28869-AC65	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC68	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC75	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC117	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC157	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC158	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>
HR28869-AC159	R	R	R	R	R	R	R	<i>Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i</i>

^zR and S mean resistant and susceptible to insect and disease

Table 7. Comparison of the control and K3a inoculation about rice yield, ratio of ripened grain, and perfect kernel of brown rice.

Var./lines	Control				K3a inoculation			
	Rough rice yield (g)	Brown rice yield (g)	Ratio of ripened grain (%)	Perfect kernel of brown rice (%)	Rough rice yield (g)	Brown rice yield (g)	Ratio of ripened grain (%)	Perfect kernel of brown rice (%)
Nampyeongbyeo	549	447	87.8	74.5	470 ^{**z}	378 ^{**}	79.5 ^{**}	63.9 ^{**}
Jinbaek	543	447	85.3	84.2	539 ^{ns}	443 ^{ns}	85.0 ^{ns}	82.2 ^{ns}
Anmi	554	455	83.7	76.1	490 ^{**}	399 ^{**}	71.5 ^{**}	72.1 [*]
HR28869-AC65	376	304	83.7	72.1	362 ^{ns}	292 ^{ns}	81.7 ^{ns}	70.1 ^{ns}
HR28869-AC68	445	362	78.1	75.3	417 ^{ns}	341 ^{ns}	77.7 ^{ns}	74.4 ^{ns}
HR28869-AC75	406	331	73.2	73.7	389 ^{ns}	318 ^{ns}	65.6 ^{ns}	72.4 ^{ns}
HR28869-AC117	431	352	76.6	73.7	394 [*]	322 [*]	74.6 ^{ns}	73.6 ^{ns}
HR28869-AC157	429	352	75.9	73.8	419 ^{ns}	343 ^{ns}	70.8 ^{ns}	72.7 ^{ns}
HR28869-AC158	450	368	75.7	72.2	419 ^{ns}	343 [*]	70.2 ^{ns}	70.9 ^{ns}
HR28869-AC159	430	352	72.3	73.1	407 ^{ns}	332 [*]	71.7 ^{ns}	71.8 ^{ns}

^zns, *, and ** mean no significant, significant at $P < 0.05$, and $P < 0.01$ by t-test, respectively

*xa5*에 9643.T4, 10571.T14, 10603.T.10Dw (Jeung et al. unpublished), 벼줄무늬잎마름병 저항성 유전자 *Stvb-i*에 ST10 (Hayano-Saito et al. 2000)을 이용하여 저항성 유전자 도입 여부를 확인하였다(Fig. 1). HR26234는 *Xa3+xa5*, *Stvb-i*을, SR30071은 *Bph18*, *Xa4*, *Stvb-i*를 가지고 있는 것으로 나타났다. 약배양 유래 계통 중 *Bph18*을 가지고 있는 계통은 42 계통으로 171개인 *bph18* 계통에 비해 4배 가량 적게 발생하였고 작성 가능한 벼흰잎마름병 저항성 유전자 조합 중에서 *xa5* 단독 계통은 발생하지 않았다. 또한 *Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i* 저항성 유전자 조합의 선발된 7개 내병충성 계통들의 출수기, 간장, 수장, 수당립수, 등숙률 등 농업형질이 비슷한 특성을 나타내어 segregation distortion이 발생한 것으로 생각된다(Table 4, 5). Segregation distortion은 분리집단에서 멘델의 분리법칙을 따르지 않고 편이 되어서 후대가 생성되는 것으로 모부분 배우체의 불임에 기인한다든지 특정 배우체의 유전자형이 선택적으로 수정이 되어서 생성되는 것으로 나눌 수 있다(Xu et al. 1997). 약배양에서 인디카는 약의 조기사멸, 낮은 캘러스 형성률과 식물체 재분화율 및 잦은 백색체 발생으로 자포니카에 비하여 저조한 효율을 보이는 것으로 알려져 있어 생태형에 따라 다르며(Grewal et al. 2011), 불임 관련 유전자들의 작용에 의해 특정 유전자형의 소멸 또는 약배양 효율이 높은 배우체 유전자형의 선택적 수정으로 인하여 segregation distortion이 발생하는 것으로 보인다.

자포니카 유전자원은 협소한 유전적 배경으로 생물적 스트레스에 저항성인 유전자를 확보하는데 제한적이다. 이를 보완하기 위해 인디카의 유용한 유전자를 자포니카로 도입하는데 있어서 전통적 육종법을 활용해서는 높은 불임, 불량한 초형과 열악형질 수반(linkage drag)으로 어려움이 있다(Jeung et al. 2005). *Bph18* 저항성 유전자는 야생벼 *O.australiensis*로부터 인디카 계통에 이전되었고 MAS기법과 전 계놈의 배경 분석(genome-wide background analysis)을 통해 자포니카 주남벼 배경에 도입되었다(Jena et al. 2006, Suh et al. 2011). *Bph18*은 12번 염색체 장완에 위치하고 있으며 이 위치에는 교잡불임과 관련된 대립유전자가 존재한다. Kubo and Yoshimura (2005)는 12번 염색체 장완에서 인디카 품종 IR24와 자포니카 품종 Asominori의 교잡시 불임과 관련된 대립유전자 *hsal-IR*을 보고하였고, Yara et al. (2010) 또한 *Bph26(t)*와 *hsal*부근에서 교잡불임과 관련된 *hsY(t)*가 존재한다고 하였다. 2011년 육성 당시 *Bph18* 보유 약배양 계통 중 *Xa3*와 *Xa3+xa5* 조합은 심한 불임을 나타내었으나 SR30071

의 *Xa4*와 HR26234의 *xa5*가 결합된 유전자 집적 *Xa4+xa5* 조합의 계통은 불임에 문제가 없는 것으로 판단되어 선발하여 생산력검정을 수행하였다. 그러나 2012년 생산력 검정 시험 중에 *Bph18+Xa4+xa5* 조합의 계통들에서 불임의 문제점이 발견되었다(data not shown). 이는 선발과정에서 면밀한 검토가 이루어지지 않았고 2012년 기상이 불임 발현에 영향을 미친 것으로 생각한다. 자포니카 주남벼 배경으로 *Bph18*이 도입된 SR30071 조합의 계통들은 *Bph18* 표지 마커를 이용하여 MAS 후 반복적인 여교배를 통해 육성되어 대부분의 계놈이 주남벼로 회복이 되었으나, 여교배 후대 계통들에 대해서 전 계놈 배경 분석을 실시한 결과 1, 2, 10, 11, 12번 염색체에 *Bph18* 수여친인 인디카 계통 IR65482-7-216-2의 염색체 절편이 남아 있고 이 부위는 여교배 세대 진전에 관계없이 유지 된다고 하였다(Shin et al. 2011, Suh et al. 2011). 인디카 IR24의 불임관련 대립유전자 *hsal-IR* (Chr. 12)는 Asominori의 불임과 관련된 대립유전자 *hsa2-As* (Chr. 8)와 *hsa3-As* (Chr. 9)와 한 계놈상에 존재할 경우 심한 불임이 발생한다(Kubo and Yoshimura 2005). *hsal-IR* 발현에 *hsa2-As*와 *hsa3-As*가 상위성(epistasis)을 나타내고 이로 인한 불임 발생은 특정 대립유전자 조합의 선택적 제거를 가져오게 된다. 따라서 약배양 집단에서 segregation distortion이 발생한 것이나 일부 계통들에서 불임이 발생한 것은 재조합 과정 중 *Bph18* 부근의 불임 관련 대립유전자와 상위성을 나타내는 다른 대립유전자들간의 조합에 기인한 것으로 생각한다.

Shin et al. (2011)은 자포니카 벼에 *Bph18* 도입할 경우 출수일수는 짧은 쪽으로, 간장과 수장은 큰 쪽으로 작용하며 등숙비율은 낮은 쪽으로 영향을 미치는 것으로 보인다 하였다. 본 연구에서도 *Bph18* 도입 계통이 *bph18* 계통에 비해 간장이 유의한 수준에서 10.1 cm 컷고 등숙비율은 표준품종과 비교품종들에 비해 낮았다(Table 4, 5). *Bph18*이 위치하고 있는 12번 염색체 장완에는 다른 벼멸구 저항성 유전자 *Bph1*, *bph2*, *Bph9*, *Bph10*, *Bph21*, *Bph26(t)*가 위치하는 것으로 알려져 있다(Jena and Kim 2010, Murai et al. 2003, Yara et al. 2010). *Bph1*은 간장을 크게 한다고 하였고 *bph2*에 의해 간장과 3절간장이 길어져 도복지수가 커진다고 하였다(Lee et al. 2005, Yeo and Sohn 2001, Yeo et al. 2002). 이러한 결과를 종합하여 Shin et al. (2011)은 12번 염색체 장완에 존재하는 *Bph1*, *bph2*, *Bph18*은 장간 유전자와 밀접히 연관되어 있어 이들 유전자를 가지고 있는 벼 품종들은 재배과정에서 도복 되기 쉬운 특성을 가진 것으로 보인다 하였다. 본 연구

에서는 이러한 도복 관련 문제에 대응하기 위해 단간 위주로 복합내병충성 계통을 선발하여 생산력 검정을 수행하였다. 이들 계통들은 표준품종인 남평벼와 비교품종인 진백, 안미에 비해서 간장이 작았다(Table 5). 하지만 등숙 후기에 이들 계통들의 식물체 기부가 기울어서 단간임에도 도복에 안정적이지 못한 특성이 나타났는데(data not shown). 간장은 줄어들었으나 상대적으로 3절간장의 길이가 길어 도복에 안정적이지 못한 것이 아닌가 생각한다.

우리나라 벼흰잎마름병 저항성원으로 많이 활용되고 있는 *Xa3*는 저항성이 자포니카 일본 품종인 Wase Aikoku 3로부터 유래하였고 1991년에 저항성 품종인 화영벼와 안중벼가 개발된 이후로 이를 이용하여 많은 우량 품종이 개발되었다(Kim et al. 2007, Shin et al. 2011). 여교배를 통해 방글라데시 *Aus* 품종 DV85의 *xa5*를 자포니카 수원345호 배경으로 도입한 근동질 유전자 계통이 육성되었고 실질적인 품종 개발로 이어져 2006년에 강백이 육성되었고 이를 활용하여 *Xa3*와 *xa5*가 결합된 진백(2008)이 개발되어 변이균인 K3a에 대응할 방안을 마련하였다(Shin et al. 2011). 현재 우리나라 자포니카 벼흰잎마름병 저항성 육종사업의 목표 유전자 조합은 *Xa3*와 *xa5*가 결합된 *Xa3+xa5* 조합(Park et al. 2013)으로 이들 조합의 품종으로 진백(2008), 신백(2010), 해품(2013)이 개발되었으며 저항성 유전자 도입에 따른 열악형질 수반 문제는 보고된 바가 없다. *Xa4*는 인디카 품종 TKM6로 부터 도입되어 인디카 품종의 벼흰잎마름병 저항성원으로 광범위하게 이용되었다(Mew et al. 1992). Suh et al. (2013)는 DNA 분자 마커 활용 여교배법(marker-assisted backcrossing; MAB)을 이용하여 *Xa4+xa5+Xa21*을 자포니카 품종에 도입하였고, 이들 도입된 여교배 진전 육성 계통(advanced backcross breeding line; ABL)들은 열악형질이 수반되지 않고 반복적인 자포니카 품종과 비슷한 농업형질과 품질 특성을 나타낸다 하였다. 하지만 *Xa4*는 아직까지 우리나라에서 실질적인 품종 개발에 활용된 적이 없기 때문에 *Xa4* 도입에 따른 파악되지 않은 문제점이 발생할 수 있으므로 면밀한 검토가 필요하다고 생각한다. 우리나라 자포니카 벼 품종의 벼줄무늬잎마름병 저항성은 인디카 Modan 유래 저항성 유전자 *Stvb-i*가 도입되어 안정적으로 이용되고 있다(Kwon et al. 2012). 1975년에 최초의 저항성 품종인 낙동벼가 개발(Chung et al. 1975)된 이후로 저항성 품종개발에 *Stvb-i*이 지속적으로 이용되고 있으나 *Stvb-i* 도입에 따른 열악형질 수반 문제는 보고된 바가 없다.

약배양을 통해 단기간에 벼멸구, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 복합내병충성 계통을 확보할 수 있었다. 하지만 계통 선발 시 파악되지 않았던 불임립의 발생, 낮은 수량성, 단간임에도 도복에 안정적이지 못한 점 등 열악형질이 발견되었다. 병해충에 대한 저항성 육종사업에서 약배양을 활용하여 조기에 육종 목표를 달성하고자 할 경우에 segregation distortion이 발생하여 편의 된 변이가 발생할 수 있고, 저항성 유전자 도입 시 linkage drag에 의해 예기치 못한 열악형질 특성이 나타날 수 있음을 고려하여 신중하게 목표에 접근하여야 할 것으로 생각한다.

적 요

본 연구는 벼멸구, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 자포니카 복합내병충성 품종을 조기에 확보하고자 약배양을 수행하여 목표 저항성 유전자 조합의 우량 고정계통을 개발하고 육성 과정 중에 발생할 수 있는 문제점을 파악하여 병해충 저항성 육종사업에 반영하고자 수행하였다. 벼흰잎마름병과 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 우량 계통 HR26234-12-1-1과 벼멸구, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병에 저항성인 SR30071-3-7-23-6-2-1-1을 인공 교배한 F₁을 약배양하여 213개 고정계통을 육성하였다. HR26234는 *Xa3+xa5*, *Stvb-i*, SR30071은 *Bph18*, *Xa4*, *Stvb-i*를 가지고 있는 것으로 확인되었다. 이들 유래 약배양 계통들은 모두 *Stvb-i*를 가지고 있었고, *Bph18+Xa3*, *Bph18+Xa4*, *Bph18+Xa3+xa5*, *Bph18+Xa4+xa5*, *bph18+Xa3*, *bph18+Xa4*, *bph18+Xa3+xa5*과 *bph18+Xa4+xa5*의 조합이 확인되었다. 약배양 집단에서 *xa5+Bph18*(또는 *bph18*)+*Stvb-i* 조합이 발생하지 않았고 *Bph18* 보유 계통이 *bph18* 보다 적게 발생하는 등 segregation distortion이 발생하였다. *Bph18*을 보유하며 벼멸구에 저항성인 계통들이 감수성인 계통들에 비해 간장이 컸다. 선발된 *Bph18+Xa4+xa5+Stvb-i* 조합의 계통은 단간이면서 벼멸구, 벼흰잎마름병, 벼줄무늬잎마름병에 저항성을 나타내었으나, 낮은 수량성과 일부 불임의 발생, 단간임에도 도복에 안정적이지 못한 특성을 나타냈다. 병해충에 대한 저항성 육종사업에서 약배양을 활용하여 조기에 육종 목표를 달성하고자 할 경우에 segregation distortion이 발생하여 편의 된 변이가 발생할 수 있고, 저항성 유전자 도입 시 linkage drag에 의해 예기치 못한 열악형질 특성이 나타날 수 있음을 고려하여 신중하게 목표에 접근하여야 할 것으로 생각한다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ008710)의 지원에 의해 이루어진 것임

References

- Chung KY, Park RK, Chung KS, Lee SK, Jeon BT, Jin YD. 1975. A new high yielding rice variety resistant to rice stripe virus 'Milyang 15 (Nagdong)'. Res. Rept. NYAES 17: 17-24.
- Collard BC, Mackill DJ. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Philosophical Transactions Royal Soc. B: Biological Sciences 363: 557-572.
- Dokku P, Das K, Rao G. 2013. Pyramiding of four resistance genes of bacterial blight in Tapaswini, an elite rice cultivar, through marker-assisted selection. Euphytica 192: 87-96
- Grewal D, Manito C, Bartolome V. 2011. Doubled haploids generated through anther culture from crosses of elite and cultivars and/or lines of rice: large-scale production, agronomic performance, and molecular characterization. Crop Sci. 51: 2544-2553.
- Hayano-Saito Y, Saito K, Fujii K, Touyama T, Tsuji T, Sugiura N, Izawa T. 2000. SCAR marker selection of the rice stripe resistance gene *Stvb-i*. Breeding Res. 2: 67-72.
- Huang D, Qiu Y, Zhang Y, Huang F, Meng J, Wei S, Li R, Chen B. 2013. Fine mapping and characterization of *BPH27*, a brown planthopper resistance gene from wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). Theor. Appl. Genet. 126: 219-229.
- Jena KK, Jeung JU, Lee JH, Choi HC, Brar DS. 2006. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 112: 288-297.
- Jena KK, Kim SM. 2010. Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics. Rice 3: 161-171.
- Jeung JJ, Hwang HG, Moon HP, Jena KK. 2005. Fingerprinting temperate *japonica* and tropical indica rice genotypes by comparative analysis of DNA markers. Euphytica 146: 239-251.
- Kauffman HE, Reddy APK, Hsieh SPY, Merca SD. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Dis. Rep. 57: 537-541.
- Khush G. 1989. Multiple disease and insect resistance for increased yield stability in rice. Progress in irrigated rice research. International Rice Research Institute, Manila, Philippines: 79-92.
- Kim KY, Shin MS, Shin SH, Ko JC, Kim BK, Ko JK, Kim JG. 2007. Resistant response of rice varieties to Korean and Philippines' bacterial blight, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Korean J. Intl. Agri. 19: 141-146.
- Kubo T, Yoshimura A. 2005. Epistasis underlying female sterility detected in hybrid breakdown in a Japonica-Indica cross of rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 110: 346-355.
- Kwak DY, Yeo US, Lee JH, Oh BG, Shin MS, Ku YC. 2007. Mass screening method for rice virus resistance using screen house. Korean J. Crop. Sci. 52: 129-133.
- Kwon TM, Lee JH, Park SK, Hwang UH, Cho JH, Kwak DY, Youn YN, Yeo US, Song YC, Nam JS, Kang HW, Nam MH, Park DS. 2012. Fine mapping and identification of candidate rice genes associated with *qSTV11^{SG}*, a major QTL for rice stripe disease resistance. Theor. Appl. Genet. 125: 1033-1046.
- Lee JH, Yeo US, Kwak DY, Park DS, Oh BG, Ku YC, Kim HY, Sohn JG. 2005. QTL analysis for ripening traits of BPH resistant backcross inbred lines in rice. Korean J. Breed. Sci. 37: 295-299.
- Lee JH, Yeo US, Cho JH, Lee JY, Song YC, Shin MS, Kang HW, Sohn JK. 2011. Marker assisted selection of brown planthopper resistance and development of multi-resistance to insect and disease in rice (*Oryza sativa* L.). Korean J. Breed. Sci. 43: 413-421.
- Mew T, Vera CCM, Medalla E. 1992. Changes in race frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in response to rice cultivars planted in the Philippines. Plant Dis. 76: 1029-1032.
- Murai H, Sharma P, Murata K, Hashimoto Z, Ketipearachi Y, Shimizu T, Takumi S, Mori N, Kawasaki S, Nakamura C. 2003. Constructing linkage maps of brown planthopper resistance genes *Bph1*, *bph2*, and *Bph9* on rice chromosome 12. Rice genetics collection. World Scientific Publishing, Singapore: 263-265.
- Park HS, Shin MS, Kim KY, Noh TH, Baek SH, Lee JH, Ha KY, Baek MK, Kim WJ, Park JH, Yoo JS, Cho YC,

- Kim BK. 2013. Reaction of single resistance genes and their pyramiding effects in indica and japonica rice against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Korea. Korean J. Breed. Sci. 45: 119-129.
21. Savary S, Teng PS, Willocquet L, Nutter Jr FW. 2006. Quantification and modeling of crop losses: a review of purposes. Annu. Rev. Phytopathol. 44: 89-112.
22. Shin MS, Kim KY, H.S. P, Ko JK. 2011. Breeding for resistance to bacterial blight in rice. Korean J. Breed. Sci. 43: 251-261.
23. Shin MS, Kim WJ, Shin WC, Park HS, Seo CS, Choi IB, Ha KY, Kang HJ, Ko JK. 2011. Effect of brown planthopper resistance gene, *Bph18* to yield components in rice. Korean J. Breed. Sci. 43: 56-61.
24. Suh J-P, Yang S-J, Jeung J-U, Pamplona A, Kim J-J, Lee J-H, Hong H-C, Yang C-I, Kim Y-G, Jena KK. 2011. Development of elite breeding lines conferring *Bph18* gene-derived resistance to brown planthopper (BPH) by marker-assisted selection and genome-wide background analysis in japonica rice (*Oryza sativa* L.). Field Crop. Res. 120: 215-222.
25. Suh J-P, Jeung J-U, Noh T-H, Cho Y-C, Park S-H, Park H-S, Shin M-S, Kim C-K, Jena KK. 2013. Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. Rice 6: 1-11.
26. Xu J. 2013. Pyramiding of two BPH resistance genes and *Stv-bⁱ* gene using marker-assisted selection in japonica rice. Crop Breed. Appl. Biot. 13: 99-106.
27. Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N, McCouch S. 1997. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂, backcross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). Mol. Gen. Genet. 253: 535-545.
28. Yara A, Phi CN, Matsumura M, Yoshimura A, Yasui H. 2010. Development of near-isogenic lines for *BPH25(t)* and *BPH26(t)*, which confer resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål.) in indica rice 'ADR52'. Korean J. Breed. Sci. 60: 639-647.
29. Yeo US, Sohn JG. 2001. Linkage analysis between some agronomic traits and resistance gene to brown planthopper in rice. Korean J. Breed. Sci. 33: 287-293.
30. Yeo US, Kwak DY, Lim SJ, Ha WG, Cho JH, Sohn JG. 2002. Relationship between agronomic traits and resistance to brown planthopper in Japonica RIL population. Korean J. Breed. Sci. 34: 148-152.
31. Yoshimura S, Yoshimura A, Iwata N, McCouch SR, Abenes ML, Baraoidan MR, Mew TW, Nelson RJ. 1995. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. Mol. Breeding 1: 375-387.